

**Zur Biochemie der Carcinome
unter besonderer Berücksichtigung
der Hepatome**

Joachim Schulz

Druck: Anneliese Schubert, München 5, Corneliusstraße 21, Telefon 21777



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

ZUR BIOCHEMIE DER CARCINOME UNTER BESONDERER

BERÜCKSICHTIGUNG DER HEPATOME

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Joachim Schulz
aus Berlin



München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. K. KOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.1958

I N H A L T

	Seite
Einleitung	5
Schrifttum	
I. Probleme der Hepatomforschung	6
II. Intermediärer Stoffwechsel der Tumoren	7
a) Allgemeine Ergebnisse	7
b) Spezielle Ergebnisse	8
1. Kohlenhydrat - stoffwechsel	8
a) Kohlenhydrate und Zwischenprodukte	8
β) Über den ATP-Gehalt von Rattenhepatomen (eigene Untersuchungen)	9
γ) Fermente	12
2. Fett - stoffwechsel	17
3. Eiweiß - stoffwechsel	18
a) Proteine	18
β) Fermente	19
4. Nukleinsäure - stoffwechsel	21
a) Nukleinsäuren	21
β) Fermente	22
c) Subzelluläre Fraktionen	23
III. Synthese- und Einbaustudien	26
1. Protein - synthese	26
a) in normalen Geweben	26
β) Theorien	27
γ) in Tumoren	27
2. Nukleinsäure - synthese	28
a) in normalen Geweben	28
β) in Tumoren	29
3. Wachstumsstoffwechsel	30
Bedeutung der Hepatome für die Carcinomforschung	32
Zusammenfassung	33
Literaturverzeichnis	36

EINLEITUNG

Die Carcinomforschung arbeitet mit einer Vielzahl heterogener Tumoren. Unter ihnen nehmen die Hepatome eine besondere Stellung ein.

Die experimentelle Darstellung der Hepatome gelang erstmalig 1934 durch japanische Wissenschaftler (Yoshida). Es war der Beginn eines sehr fruchtbaren Abschnittes der Carcinomforschung. Seine Grundlage war der systematische Vergleich von Tumoren bekannter Genese mit ihren Ursprungsgeweben. Man ging dabei von der Tatsache aus, dass Tumoren wie normale Gewebe durch ein bestimmtes Stoffwechselschema, wie es sich zum Beispiel in den Fermenten widerspiegelt, charakterisiert sind, und folgerte daraus, dass durch vergleichende Studien Aufschluss über das Wesen des neoplastischen Vorganges zu gewinnen sei.

Auf Anregung von Frau Dr. Dr. von BRAND habe ich mir die Aufgabe gestellt, die Ergebnisse der Studien an Hepatomen im Rahmen einer Betrachtung des Tumorstoffwechsels zusammenzufassen und ihre Bedeutung für die biochemische Krebsforschung zu diskutieren.

I. PROBLEME DER HEPATOMFORSCHUNG

Hepatome lassen sich durch Fütterung von Azofarbstoffen und halogenisierten Kohlenwasserstoffen bei Ratten und Mäusen erzeugen. Untersucht man die nach einer Fütterungsdauer von mehreren Monaten entstandenen Primärtumoren, so stellt man fest, dass die Aktivität ihrer Fermente im Vergleich zum normalen Ursprungsgewebe verstärkt, vermindert, unverändert oder auch ganz geschwunden ist. Um zu klären, wie es zu diesen Veränderungen kommt, und ob sie plötzlich mit dem Erscheinen des Tumors auftreten oder sich allmählich parallel der aufgenommenen Farbstoffmenge entwickeln, prüfte man systematisch alle Stadien der Präcancerose. Die Ergebnisse sind jedoch widersprechend, so dass eine klare Antwort auf diese wichtigen Fragen der Krebsentstehung heute noch nicht möglich ist. Experimentelle Schwierigkeiten entstehen besonders dadurch, dass man nicht vorhersagen kann, an welcher Stelle des Gewebes sich die ersten Krebszellen bilden, und weil man deshalb immer zu einer Untersuchung des ganzen Materials gezwungen ist. Die Ergebnisse der meisten Arbeiten sprechen dafür, dass die Umwandlung ziemlich abrupt vor sich geht (1).

Ähnliche Schwierigkeiten ergeben sich beim Studium der Primärtumoren. Selbst solche der gleichen Art zeigen eine in ihren epithelialen Anteilen stark wechselnde Zellzusammensetzung (10-90 %) (2 a), so dass quantitative Angaben nur mit Vorbehalt gemacht und verwertet werden können.

So ist es zu erklären, dass man von der Erforschung dieser für die Klinik so wichtigen frühen Stadien der malignen Entartung etwas Abstand nahm und sich mehr dem Studium älterer Tumoren zuwandte. Durch häufige Verpflanzung kommt es zu einer starken Zunahme der zellulären Elemente im Tumor, so dass nach mehreren Generationen mit einem nahezu konstanten Gehalt an epithelialen Zellen gerechnet werden kann.

Die transplantierten Hepatome stellen das "Z im neoplastischen Alphabet zum A" der normalen Leber dar (2b): "In effect, it is Z in the neo-

plastic alphabet to the normal tissue's A". Auf transplantierte Hepatome beziehen sich, wenn nicht anders erwähnt, die folgenden Ergebnisse. Ergänzend werden regenerierende und fetale Lebern herangezogen, die weitere wertvolle Vergleichsmöglichkeiten bieten.

Ebenfalls eine Abkehr von den natürlichen Versuchsbedingungen ist die Verwendung von Gewebsschnitten, Homogenaten und subzellulären Fraktionen. Beides zusammen ergibt ein sehr künstliches, von den Vorgängen in vivo weit entferntes Bild. Doch erst wenn die chemischen Eigenschaften einfacher Systeme geklärt sind, kann man auf die klinisch bedeutsamen Stadien übergehen.

II. INTERMEDIÄRER STOFFWECHSEL DER TUMOREN.

a) Allgemeine Ergebnisse.

Die Ergebnisse der unter dem Gesichtspunkt der Fermentaktivität durchgeführten Hepatomforschung wurden zu einem grossen Teil für Tumoren verschiedener Art und Genese bestätigt, so dass sie allgemein formuliert werden können.

Tumoren besitzen qualitativ die gleichen Fermente wie normale Gewebe. Sie lassen sich weder durch das Auftreten eines spezifischen Tumorermentes noch durch den Ausfall eines oder mehrerer normaler Fermente charakterisieren. Zwar fehlt allen untersuchten Tumoren Cystindesulfarase und Dehydropeptidase II (2 c), jedoch ist dieser Verlust wohl nicht entscheidend für allgemeine Stoffwechselvorgänge.

Tumoren stehen innerhalb des Stoffwechselbereiches normaler Gewebe: die Aktivität ihrer Fermente liegt zwischen den höchsten und niedrigsten bei jenen vorkommenden Werten. Ist sie normalerweise besonders hoch, wie Arginase, Katalase, Cystindesulfarase und Flavin in der Leber, so sinkt sie ab oder geht ganz verloren (2 d), ist sie niedrig, so können ihre Werte ansteigen und einen Mittelwert erreichen, nie jedoch wird die normal

vorkommende obere Grenze überschritten. So bleibt Hepatom-Kathepsin unter Milzkathepsin (3) und Hepatom-Phosphatase unter Dünndarmschleimhaut-Phosphatase (2 e). Das Absinken eines Fermentes im Tumor lässt sich vielleicht erklären als Verlust einer im normalen Gewebe vorhandenen, zur Erhaltung des Gewebes aber nicht unbedingt notwendigen Reserveaktivität (2 e).

Der Aktivitätsbereich aller Fermente ist bei Tumoren bedeutend enger als bei normalen Geweben, woraus sich eine grössere Einheitlichkeit des chemischen Verhaltens ergibt. Magenschleimhaut und Leber z.B. zeigen qualitativ und quantitativ ein sehr unterschiedliches Fermentverhalten, das von Magen-Adenocarcinom und Hepatom ist jedoch fast gleich (2 f). In Primärtumoren und frühen Transplantaten sind oft noch normale Gewebefunktionen erhalten, wie die Dehydropeptidase im Hepatom (2 g), jedoch sind auch hier schon die Unterschiede zwischen den einzelnen Tumoren geringer als zwischen ihren Ursprungsgeweben. Tumoren nähern sich also mit zunehmendem Alter einem gemeinsamen Gewebstyp. Ausnahmen von dieser Regel sind wohl das osteogene Sarkom und das Prostata-Carcinom mit einer sehr stark erhöhten Alkali- bzw. Säure-Phosphatase-aktivität.

b) Spezielle Ergebnisse.

1. Kohlenhydratstoffwechsel.

a) Transplantierte Hepatome zeigen im Gegensatz zu der normalen Leber einen geringen Glykogen- (4, 5) und hohen Milchsäuregehalt (6, 7). Primäre Hepatome sind reicher an Glykogen, was sicher mit auf den noch hohen Anteil an normalen Zellen zurückzuführen ist (8).

Brenztraubensäure findet man im Hepatom vermehrt Oxalessigsäure ist in normalen und Tumorgeweben gleichermassen wenig vorhanden (9).

Die Spiegel einzelner Zwischenprodukte des Zitronensäurezyklus sind bei verschiedenen Tumoren einheitlicher als normal (10-14).

Die Zwischenprodukte der phosphorylierenden Glykolyse sind in normaler Leber und primärem Hepatom in etwa gleichen Mengen enthalten (8). Schnell wachsende Tumoren weisen einen erhöhten Spiegel an verestertem Phosphat auf (15).

ß) In eigenen Versuchen wurde der ATP^{+} -Gehalt von Buttergelb-Rattenhepatomen bestimmt. Die Hepatomratten wurden uns von der Chirurgischen Universitätsklinik Freiburg zur Verfügung gestellt. Unser besonderer Dank gilt Herrn Professor DRUCKREY für die Überlassung der Tiere.

Zuführung des Buttergelbs.

Etwa 150 g schwere Tiere eines auf Buttergelb besonders ansprechenden Stammes (BDIII) erhielten täglich ungefähr 5 mg Buttergelb, eingebacken in 5 g eines nach einem besonderen Verfahren hergestellten Brotes (wie Latzfutter). Die Ratten bekamen nur dieses Brot, in dem alle für die Ernährung notwendigen Substrate enthalten waren. Die täglich aufgenommene Menge Buttergelb wurde durch Zurückwägen des am Tage nicht gefressenen Futters bestimmt. Insgesamt wurden ungefähr 700 mg Buttergelb zugeführt. Bis zum Auftreten eines palpablen Tumors bekamen die Ratten normale Kost.

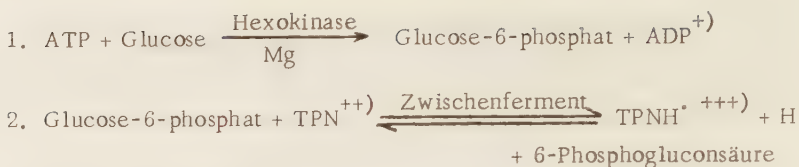
Aufarbeitung der Leber.

Die Leber wird im Ätherrausch herausgenommen, in Eiswasser gewaschen und mit Filtrierpapier getrocknet. 2 g Leber werden mit 8 ml 6% Perchlorsäure versetzt und für 2' bei 0° in einem elektrischen Homogenisator ("Homogenisator für wissenschaftliche Zwecke" der Firma Edmund Bühler, Tübingen) mit 50 000 U/min homogenisiert. 4 ml des Homogenats werden für 10' bei 15 000 U/min zentrifugiert. Den Überstand stellt man mit 0,5n KOH auf einen pH-Wert von 7,4 ein. Das Gemisch wird 15' bei 0° aufbewahrt, der Überstand vom KClO_4 abgegossen. Bis zur Bestimmung des ATP-Gehaltes verbleibt die Lösung im Eisschrank.

Bestimmung des ATP-Gehaltes.

Der von uns angewandte ATP-Test beruht auf den von WARBURG und KORNBERG angegebenen Reaktionen:

+) ATP = Adenosintriphosphorsäure



TPNH, als Mass des in der Lösung vorhandenen ATP, hat ein Absorptionsband bei 334 m μ und wird im Eppendorf-Photometer bestimmt.

Reagenzien:

TRAP	: 0,05m-Lösung; pH = 7,6
(Triäthanolamin-puffer)	Man löst 9,3 g TRA-HCl in 500 ml H ₂ O, stellt mit 22 ml n-NaOH auf pH=7,6 ein und füllt mit H ₂ O auf 1000 ml auf.
MgCl ₂	: 0,1m-Lösung. 95,2 mg MgCl ₂ werden in 10,0 ml H ₂ O gelöst.
Glucose	: 0,5m-Lösung
TPN-Lösung	: 10 mg TPN auf 5,0 ml H ₂ O
Hexokinase-Lösung	: 15 mg Ferment auf 1,0 ml H ₂ O
Zwischenferment	: Suspension des Fermentes in 2,0 ml-Ammonsulfat.

Man pipettiert in eine Klüvette (Schichtdicke 2 cm)

4,00 ml TRAP
 0,20 ml MgCl₂
 0,45 ml Glucose
 0,20 ml ATP-haltige Lösung
 0,05 ml TPN

+) ADP = Adenosindiphosphorsäure

++) TPN = Triphosphopyridinnucleotid

+++ TPNH = Hydrotriphosphopyridinnucleotid

und stellt den Anfangswert (E_1) dieser Mischung im Photometer fest. Mit der nun folgenden Zugabe von

0,05 ml Hexokinase + Zwischenferment

beginnen die oben genannten Reaktionen. Man liest nach der 1., 3., 5., 7. und dann nach jeder weiteren Minute ab, bis der Prozess beendet ist. Der Endwert sei E_3 . Durch eine nochmalige Zugabe der gleichen Fermentmenge wird der hierdurch zu Beginn der Reaktionen hervorgerufene Extinktionssprung gemessen (E_2). Die gesuchte Extinktion beträgt dann:

$$E = E_3 - (E_1 + E_2).$$

Die Berechnung des ATP-gehaltes erfolgt nach der Formel:

$$\mu\text{ ATP/g Leber} = E \cdot V \cdot \frac{507 \cdot V_1}{6,13 \cdot 1000 \cdot V_2 \cdot V_3}$$

oder vereinfacht:

$$\mu\text{ ATP/g Leber} = E \cdot V \cdot 1,023$$

Abkürzungen:

E = Extinktion

V = Küvetteninhalt + verbrauchte KOH

V_1 = Küvetteninhalt = 4,95

V_2 = Volumen der enteiweissten Leber = 2,00

V_3 = ATP-haltiges Substrat (Überstand) in der Küvette = 0,20

507 = Molekulargewicht von ATP

6,13 · 1000 = molare Extinktion

Ergebnisse.

Tier-Nr.	*) ATP/g Lebergewebe		
	normales Gewebe	präcanc. Gewebe	Tumorgewebe
1085	346.305	196.907	90.249
1089	244.260	185.674	40.490
2664	366.868		119.904
1083		132.909 129.204	51.313
1088		224.548	116.437
876		208.180	132.760
8 gesunde Ratten desselben Stammes: 350.152 - 474.707			

Die Bezeichnungen "normales" und "präcanceröses" Gewebe wurden auf Grund des makroskopischen Bildes der betreffenden Leberabschnitte gewählt. Bei den Ratten Nr. 1083, 1088 und 876 waren die Lebern vollkommen carcinomatös verändert, so dass kein normales Gewebe getestet werden konnte.

Die Zahlen lassen erkennen, dass

1. Hepatome im Vergleich zur normalen Leber einen wesentlich geringeren Gehalt an ATP aufweisen und
2. dass auch bei makroskopisch nicht oder nur gering veränderten Gewebeanteilen einer Hepatomleber der ATP-Gehalt gegenüber einer Normalleber vermindert ist, so dass man auch hier schon von einer gewissen malignen Entartung, zumindest von einer cancerogenen Vorstufe sprechen kann.

*) Eine der auffallendsten und am längsten bekannten Erscheinungen des Tumorstoffwechsels ist die hohe Milchsäurebildung. Der in zahlreichen Arbeiten unternommene Versuch, sie zu deuten, führte zu einer

systematischen Erforschung des intermediären Kohlenhydratabbaus und seiner Fermente.

Theoretisch bestehen drei Möglichkeiten, wie der Stoffwechsel der Tumoren gestört sein könnte:

1. auf Grund einer spezifischen Tumoreigenschaft,
2. weil Tumoren ein Übermass an solchen Fermenten besitzen, die Glucose in Milchsäure verwandeln, oder
3. weil es ihnen an Fermenten zum weiteren Abbau der Milchsäure fehlt (2 h).

ad 1. Während die erste Möglichkeit auf Grund vieler Untersuchungen, die weder in der anaeroben noch in der aeroben Phase des Kohlenhydratstoffwechsels einen qualitativen Unterschied zum normalen Ablauf erkennen liessen (2 i), wohl ausscheiden muss, führte die quantitative Erforschung (2. und 3.) zu aufschlussreichen, sich zum Teil ergänzenden Einzelergebnissen, deren Bedeutung für allgemeine Stoffwechselvorgänge jedoch von manchen Forschern (Weinhouse) abgelehnt wird.

ad 2. Ein gewisses Missverhältnis im Gehalt an phosphorylierenden und dephosphorylierenden Fermenten (16) wird von manchen Autoren (2 i, 17) als ein die Glykolyse fördernder Faktor angesehen. Während unter normalen Bedingungen aus der primär gebildeten Glucose-6-phosphorsäure entweder Glucose oder Glykogen oder Fructose-6-phosphorsäure entsteht, sind beim Hepatom die beiden ersten Wege durch eine erhebliche Verminderung der entsprechenden Fermente - Phosphorylase (in Abwesenheit von Adenylsäure (5)), Glucose-6-phosphatase (18, 19) und nach neusten Untersuchungen (20) auch Phosphoglucomutase - weitgehend versperrt. So kommt es, abgesehen von einer geringen absoluten Erhöhung des Phosphohexose-isomerase-spiegels, zu einer starken relativen Vermehrung dieses Fermentes und damit zu einem forcierten Glucoseabbau. Besonders wichtig ist das Verhältnis Hexokinase : ATP-ase. Obwohl ATP-ase⁺ im Vergleich zu Hexokinase sehr reichlich in Tumorphomogenaten vorhanden ist (21), genügt der Tumor-

⁺) ATP-ase = Adenosintriphosphatase

Hexokinasegehalt, um die Glykolyse durchzuführen (22). Will man in Homogenaten eine beständige Glykolyse erhalten, muss Hexokinase zugeführt oder ATP-ase gehemmt werden, was z.B. durch Octylalkohol (2 i) geschehen kann.

Eine grosse Rolle im Tumorstoffwechsel spielt vielleicht die "Nicht phosphorylierende Glykolyse", der "Hexosemonophosphat-shunt" (2 k). Seine Bedeutung liegt in der Bildung von Ribose-5-phosphat zum Einbau in Nukleinsäuren und Coenzyme. Als zuständige Fermente wurden gefunden Glucose-6-phosphat-dehydrogenase und Phosphogluconat-dehydrogenase sowie die des Ribose-5-phosphat-stoffwechsels (23).

ad 3. Dieser Möglichkeit galt lange das besondere Interesse der biochemischen Krebsforschung. Sie beinhaltet die oxydative Phase des Kohlenhydratabbaus im Zitronensäurezyklus und steht somit in engem Zusammenhang zur Atmung sowie zum Endabbau der anderen Körperbausteine.

Eine der frühesten Feststellungen-sie gilt für Tumoren allgemein - ist die des geringen Gehaltes an Oxydations- und Reduktionsfermenten sowie Cofermenten (24-31). So sind Cytochromoxydase (Warburg'sches Atmungsferment), Cytochrom c und Katalase, auch DPN^{+} und Flavinenzyme, Diaphorase im Hepatom beachtlich reduziert. Der Cytochrom-c-reduktase-spiegel ist eigenartigerweise wohl normal (32).

Trotz der geringen Mengen nachweisbarer Cytochromkomponenten (auch der Porphyrinspiegel ist sehr niedrig, wie bei menschlichen Tumoren festgestellt wurde (33)) haben Tumoren fast den gleichen O_2 -verbrauch wie normale Gewebe (Warburg). Nach Zuführung von Glucose z.B. und p-Phenylendiamin steigt die Atmung des Hepatoms und der anderen Tumoren nur sehr wenig an (2 l). Tumoren besitzen eben eine nur sehr geringe bei Belastung zur Verfügung stehende Fermentreserve und können zusätzliche Energieforderungen nur durch Erhöhung ihrer Glykolyse erfüllen (24-29).

Bei Substrat im Überfluss und Zuführung von Cytochrom c stieg der O_2 -verbrauch vieler Tumoren stark an, der des Hepatoms nur mittelmässig,

+) DPN = Diphosphopyridinnucleotid

so dass die Frage nach der Malignität des Hepatoms gestellt werden kann (2 m). Cytochrom c ist der allein begrenzende Faktor, Cytochromoxydase ist, bezogen auf Cytochrom c, immer im Überfluss vorhanden (34). Je grosser der Unterschied zwischen beiden Komponenten, desto maligner ist der Tumor (2 m).

Mit ein Grund für die geringe Menge des Cytochromsystems mag seine Lokalisation in den Mitochondrien sein, die in Tumoren ebenfalls vermindert sind.

Der niedrige Gehalt an Wasserstoff-übertragenden Fermenten lässt sich wohl auf den ebenfalls geringen Vitamin B-Spiegel in Tumoren zurückführen (2 n). Dabei ist der Anteil an DPN-H_2 , ⁺⁾ der in der normalen Leber etwa 50 % der ganzen Cozymase ausmacht, im Hepatom auf ungefähr 30 % (2 o) gesunken. Ein Überwiegen der reduzierten Form der Lacticodehydrogenase, woran man zur Klärung der hohen Milchsäurebildung auch dachte, kommt also nicht in Betracht. Dagegen dürfte die Frage Bedeutung haben, inwieweit Pyridinnukleotide in Konkurrenz stehen mit Flavoproteinen und Cytochromen um Elektronen, die die einen zur Brenztraubensäure, die anderen zum Sauerstoff transportieren (35).

Der an und für sich schon verminderte Gehalt an DPN im Hepatom wird durch Pyridinnukleotide-zerstörende Fermente, die bei der Homogenisierung frei werden, weiter reduziert (37), so dass die Oxydation zugeführter Substrate sehr gering ist. Durch Zugabe von DPN konnte die Stoffwechselintegrität der Tumor- und auch normalen Homogenate, deren Oxydationsfähigkeit ebenfalls gesunken war, wiederhergestellt werden, und es zeigte sich, dass der Abbau von Hexosediphosphat in normalen und Tumorgewebe fast gleich gross (36, 38) ist und dass Brenztraubensäure, Oxalazetat, Äpfelsäure und andere Substrate leicht oxydiert werden (39). Das gleiche gilt auch für die übrigen Komponenten des Zitronensäurezyklus (13) mit Ausnahme der Bernsteinsäure, deren Abbau jedoch auch kaum vermindert war. Verhindert man durch Fluorid die in Tumorumogenaten so erhebliche ATP-Zersetzung und führt ausserdem ATP zu, so ist die Oxydation von Oxalazetat und Brenztraubensäure ebenfalls leicht möglich. Isoliert man Tumormitochondrien, um die

+) DPNH_2 = Dihydro-diphosphopyridinnukleotid

ATP-ase-aktivität (11) auszuschalten, so lässt sich nach Zuführung von DPN bei der Oxydation von α -Ketoglutarinsäure und Bernsteinsäure eine hohe ATP-synthese nachweisen (40).

Die einzelnen Fermente des Zitronensäurezyklus zeigen in normaler Leber und Hepatom vergleichbare Werte (10 - 12). Tumoren besitzen auch das "condensing enzyme" (Potter hatte das bezweifelt (11)), und zwar in gleichen Mengen wie normale Gewebe (12). Für Potters Ansicht schienen die Versuche mit Fluoressigsäure zu sprechen, die bei allen normalen Geweben ausser Leber und auch ausser Tumoren (41) zu einer Anhäufung von Zitrat führten. Offenbar besteht eine Hemmung der weiteren Oxydation. Während die Leber wohl den Ausweg zu Acetessigsäure hat, scheint den Tumoren ein für Fluoressigsäure empfindliches System zu fehlen. Bringt man in vitro Tumorzellen mit Oxalazetat und Azetat zusammen, so häuft sich mit Fluoressigsäure nur etwa die gleiche Zitratmenge an wie ohne diesen Stoff. Tumoren erzeugen Zitrat anscheinend schneller als sie es weiter verarbeiten können. Der oder die begrenzenden Faktoren sind nicht bekannt.

Die Aktivität des Zitronensäurezyklus in Tumoren ist also vermindert. Durch DPN und ATP lassen sich jedoch die beim Hepatom und bei normaler Leber voneinander abweichenden glykolytischen, Phosphorylierungs- und Oxydationsvorgänge angleichen, - ein Beweis für die quantitative Art dieser Unterschiede.

Der hohen Glykolyse steht ein relativer Mangel an Atmungsfermenten gegenüber. Welche Bedeutung haben diese Veränderungen, und wie lassen sie sich erklären? Nach Lettré (42) und Hirsch (43) kommt es zu einer unvollständigen Oxydation von Zwischenprodukten des Zitronensäurezyklus, die die Voraussetzung für ein lebhaftes Tumorwachstum schafft. Die Milchsäurebildung ist vielleicht nur eine Nebenreaktion, um die überschüssige Brenztraubensäure aus der Zelle zu entfernen.

Warburg (44) sieht die Ursache der hohen Milchsäurebildung in einer primären Atmungsschädigung. Daraus ergibt sich ein Energiemangel, den die irreversibel geschädigte Zelle durch eine Steigerung der auch in normalen Geweben bestehenden aeroben Glykolyse auszugleichen sucht. Damit ist seiner Meinung nach die Bedeutung der hohen aeroben Glykolyse in Tumoren erschöpft.

Warburgs Meinung wird besonders von Weinhouse (35, 8) angefochten mit dem Hinweis, dass es bisher nicht gelungen sei zu zeigen, wie und an welcher Stelle des Stoffwechsels die Atmung geschädigt sein sollte.

Eine Möglichkeit der Lokalisation findet sich bei Potter (siehe S. 30).

2. Fettstoffwechsel.

Der Fettstoffwechsel ist noch relativ wenig erforscht. Man weiss, dass die Fähigkeit von Tumoren, Fettsäuren zu oxydieren, herabgesetzt ist. Es werden jedoch genügend C-2-Fragmente zum weiteren Abbau im Zitronensäurezyklus erzeugt (45). Tumoren bilden keine Azetonkörper, ihre Fähigkeit, Azetoazetat zu oxydieren, ist aber in Scheibenpräparaten erstaunlicherweise erhöht (1).

Die Lipogenesis in Tumoren ist in vitro sehr gering. Sie steht in keinem Verhältnis zu der im Tumor gefundenen Fettmenge (13). Man kann annehmen, dass der Tumor die Fetthilfsquellen des Wirtes für sein Wachstum benutzt (14). Auch zur Energieerzeugung werden Fettsäuren des Wirtes verwandt, wie es für transplantierte Tumoren nachgewiesen wurde (35). Versuche in vitro ergaben, dass Tumoren radioaktiven Kohlenstoff von Azetat und Glucose in Fettsäuren einbauen, wobei bei Glucose als C-Quelle das Hepatom bedeutend aktiver ist als die normale Leber (46, 47). Ein Grund hierfür ist wohl die geringe Glucoseoxydation.

Von mehreren Forschern wurde auf die Zusammenhänge zwischen Glykolyse und Fettstoffwechsel hingewiesen (35, 48). Sie ergeben sich etwa aus der Tatsache, dass das während der Glykolyse erzeugte DPNH als reduzierendes Coencym bei der Fettsynthese wirkt (48).

3. Eiweiss-Stoffwechsel.

α) Die Proteine sind artspezifisch, jedoch ist das Verhältnis der einzelnen Aminosäurenbestandteile in den Proteinen homologer Gewebe fast immer gleich. Auffallende Unterschiede wurden in der Schwefelverteilung festgestellt (49 - 51), als es gelang, Cystin und Cystein getrennt nachzuweisen. Wie zuerst bei der Untersuchung gereinigter Leberproteinfraktionen mehrerer Tierarten erkannt wurde, ist zwar die Summe von Cystin und Cystein für alle homologen Gewebe gleich, das Verhältnis Cystin:Cystein jedoch jeweils verschieden und konstant. Es scheint sich bei dieser Tatsache um ein wesentliches Charakteristikum eines jeden Gewebes zu handeln. Es wird weiterhin deutlich, wie gross die Unterschiede zwischen den Proteinen auch homologer Gewebe trotz weitgehender Übereinstimmungen sind.

Die gereinigte Nukleoproteinfraktion transplanterter Rattenhepatome ist in ihrer Aminosäurezusammensetzung fast nicht von normaler Leber zu unterscheiden (50, 51).

Der Anteil an schwefelhaltigen Aminosäuren ist für Hepatom und normale Leber verschieden, das Verhältnis Cystin:Cystein jedoch für beide Gewebe gleich. Der Tumor bildet sein Protein aus den Quellen seines Wirtes (2 p).

Der absolute Schwefelgehalt von Azetonpulvern normaler Rattenleber beträgt 1,32%, der des primären Hepatoms 1,34% (52). Behandelt man die Azetonpulver verschiedener menschlicher und Rattentumoren mit Alkali, so erhält man viel grössere Mengen elementaren Schwefels als aus entsprechenden normalen Geweben. Auch jede normale subzelluläre Fraktion ergibt weniger Schwefel als die Tumorfraction. Diese Ergebnisse lassen auf verschiedene Kombinationsarten von Cystin bzw. Cystein in den Proteinen normaler und Tumorgewebe schliessen (43).

Die in diesem Zusammenhang interessante Untersuchung von Glutathion zeigte ein Gleichgewicht seiner Schwefelgruppe mit entsprechenden Gruppen an der Oberfläche von Gewebsproteinmolekülen. Der Gehalt an

Glutathion ist im primären Hepatom um 11%, im transplantierten um 24% gesunken. Die Werte von Cystein verhalten sich ähnlich (29).

In jedem Gewebe kommen auch freie Aminosäuren vor. Während Menge und Zusammensetzung bei normalen Geweben sehr wechseln, sind sie bei den verschiedensten Tumoren fast gleich (53). Die Versuche werden dadurch erschwert, dass sich aus Tumoren auf Grund der geringen Cytoplasmamenge nur wenig lösliche Proteine extrahieren lassen (2 r). Mit Hilfe der Elektrophorese wurde festgestellt, dass die langsam wandernden h-Komponenten (54) während der Carcinogenese den grössten Teil des nicht abgebauten Azofarbstoffes binden, dann sogar vermehrt auftreten (besonders h_2 (55)), letztlich aber der Zelle verloren gehen. Im Tumor sind die h-Komponenten stark vermindert (56, 57), die schnell wandernden Bestandteile vermehrt. Diese Befunde sollen charakteristisch für schnelle Proteinsynthese sein (58). Vielleicht handelt es sich hier sogar um den Verlust von Proteinen, die für die Wachstumskontrolle wesentlich sind. Schwer zu erklären wäre dann jedoch das Entstehen eines spontanen Tumors.

f) Ausschliesslich oder hauptsächlich in der Leber vorkommende Fermentsysteme, wie Histidase und Harnstoff synthetisierende Systeme, - Citrullin, Ornithin + Ammoniaksystem oder Ornithin - Glutaminsäuresystem, auch das Glutamin- oder Asparagin- transaminase-deaminase-system und Arginase - sind im Hepatom sehr vermindert oder fehlen ganz (59-63). So kommt es mit zunehmendem Alter zu der erwähnten immer stärker ausgeprägten Ähnlichkeit von Tumoren verschiedenster Genese.

Die in den Zellen aller Gewebe vorhandenen proteolytischen Fermente werden gemeinsam auch als Kathepsine bezeichnet. Ihre im folgenden angeführten Fermentaktivitäten beziehen sich nur auf die Hydrolyse und nicht Synthese, es sei denn, man fasse diese als eine Umkehrung jener auf, was aber nicht gerechtfertigt zu sein scheint (25) (siehe S. 27). Die Kathepsine reagieren auf die neoplastische Veränderung im allgemeinen mit einer Erhöhung ihrer Aktivität (25). In gewissem Gegensatz dazu steht die Tatsache, dass ihre wichtigsten Aktivatoren (Sulphydrylgruppen, Glutathion) im Hepatom vermindert sind. Wahrscheinlich gibt es aber noch andere aktivierende Faktoren, wie man aus dem Vergleich mit fetaler Leber, die ebenfalls sehr wenig Glutathion enthält

und deren Ultrafiltrat trotzdem auf Kathepsine stark aktivierend wirkt (25), schliessen kann.

Das Glutaminsäure-Brenztraubensäure-transaminase-system ist im Hepatom vermindert (64), das phosphataktivierte Glutaminase-system erhöht (2 t).

Von den Peptidasen werden die intrazellulären Carboxypeptidasen (= Acylasen - mit endständiger COOH-gruppe und nicht endständiger NH_2 -gruppe) und die Amino-peptidasen (mit endständiger NH_2 - und nicht endständiger COOH-gruppe) betrachtet, sowie die zugehörigen Dehydropeptidasen.

Amino-peptidasen finden sich in der löslichen Fraktion aller Gewebe. Ihre Aktivität ist überall relativ hoch, sie steigt im Hepatom noch an (3, 62). - Bei den Amino-dehydropeptidasen (Dehydropeptidasen I) lassen sich in der Leber wie in der Niere zwei Gruppen unterscheiden: die eine hydrolysiert nur Glycyl-dehydroalanin und kommt in der löslichen Fraktion vor, die andere hydrolysiert alle übrigen bekannten Glycyl-dehydroaminosäuren und findet sich in den Mitochondrien (65). Im Hepatom ist die Aktivität gegen Glycyl-dehydroalanin angestiegen, die gegen die übrigen Glycyl-dehydroaminosäuren gesunken (62, 66). Es kommt bei Leberneoplasie also wohl nicht nur zu der bekannten Reduktion der Mitochondrien sondern auch zu einem Anstieg gewisser löslicher Fermentsysteme.

Auch die Acylasen sind lösliche Systeme. Sie wirken auf Acetyl-amino-säuren und finden sich in allen Geweben. Ihr Spiegel ist im Hepatom unverändert (62). Eine Dehydropeptidase II, die sich nur in Leber, Niere und Pankreas findet (67), ist spezifisch für Acetyl-dehydroalanin (62) und im Hepatom nahezu auf null gesunken.

Die verschiedenen auf gesättigte und ungesättigte Peptide wirkenden Fermente lassen sich im Experiment nebeneinander nachweisen (2 o): erhitzt man die lösliche Fraktion von Rattenleberhomogenaten, so verschwindet schon bei 48 Grad die Wirkung auf Glycyl-dehydroalanin; bei 60 Grad ist die auf Chloroacetyl-alanin zum grossen Teil zerstört, nicht aber die auf Chloroacetyl-dehydroalanin; die erhaltene Aktivität ist für beide Substanzen fast gleich gross und konnte in ihrer Wirkung

nicht getrennt werden. Diese letztere ist wohl Dehydropeptidase II (65, 68). Die Unterschiedlichkeit der einzelnen Fermente zeigt sich auch im Hepatom: die Aktivität der einen Gruppe steigt, die der zweiten bleibt normal und die der dritten sinkt (2 o).

Die hohe Aktivität des Fermentes für Glycyl-dehydroalanin mag ihre Ursache haben in der Vereinigung mit einem anderen löslichen System, das für den Tumorstoffwechsel bedeutsamer ist, oder sie entspricht einem wirklichen Stoffwechselbedürfnis in diesen Tumoren, das Peptide mit anderen Dehydroamino-säuren nicht erfüllen können (2 v). Die biologische Herkunft der Dehydropeptide ist unbekannt; die α , β -Nichtsättigung kann aber, wie Knoop im Falle der Aminosäureoxydation zeigte, wohl ein biologischer Prozess sein (2 v).

Wie Dehydropeptidase II so kommt auch Cystin-desulfarase nur in Leber, Niere und Pankreas vor und fehlt auch im Hepatom. Ihr Verlust deutet nur die spezifische Funktion an, die sie in gewissen normalen Geweben ausüben müssen, in grundlegenden Stoffwechselreaktionen spielen beide Fermente offenbar keine Rolle (2 v).

4. Nukleinsäurestoffwechsel.

α) Die Nukleinsäuren des Hepatoms lassen sich qualitativ nicht von denen der normalen Leber unterscheiden. Wie durch chromatographische Studien festgestellt wurde, bestehen jedoch in den Bestandteilen der Nukleinsäuren gewisse quantitative Unterschiede, die sich aber nicht auf die makromolekulare sondern mehr die innere Struktur wie Folge und räumliche Anlage der Nukleotide in der Nukleotidkette sowie Kettenlänge und Polymerisationsgrad erstrecken. So soll Kern-RNA⁺⁾ besonders reich an Guanin und Uracil, Mitochondrien-RNA an Uracil und Mikrosomen-RNA an Guanin und Cytosin sein (69). Diese Unterschiede bestehen bei Hepatomen und anderen Tumoren nicht (70). Für DNA⁺⁺⁾

+) RNA = RNS = Ribonucleinsäure

++) DNA = DNS = Deoxyribonucleinsäure

konnte eine spezifische Verteilung der Nukleinsäuren in den subzellulären Fraktionen nicht nachgewiesen werden (70).

Der Gehalt an DNA je Kern ist für Hepatom und normale Leber gleich (71), der an RNA jedoch ist im Cytoplasma des Hepatoms höher als normal (2 w), wie aus Messungen des absoluten DNA- bzw. RNA-gehaltes und Berechnungen der Kern- und Cytoplasmamenge bei Leber und Hepatom hervorgeht. Der konstante DNA-gehalt erlaubt Schlüsse auf die Zellzahl und somit das Wachstum (2 x). Tumor-RNA soll reicher an Guanylsäure, ärmer an Uridyl- und Adenylsäure sein (70).

Über die Verteilung der verschiedenen Nukleinsäuren in Neoplasmen, ihren Ursprung und ihr Schicksal ist noch wenig bekannt (70). Die Ergebnisse der Isotopenstudien werden später beschrieben.

β) Die Fermente des Nukleinsäurestoffwechsels lassen sich einteilen in solche für DNA und solche für RNA. Beide Gruppen können durch die Verwendung von dialysierten anstatt frischen Gewebsextrakten voneinander getrennt werden; die Aktivität der DNA-fermente verschwindet und tritt erst nach Zuführung eines Erdalkali- oder Alkalisalzes wieder auf (2 y).

Vergleicht man dialysierte und frische Extrakte einer normalen Leber, so stellt man bei ersteren eine deutlich höhere Bildung von anorganischem Phosphat fest (72). Man vermutet, dass in frischen Extrakten besondere Hinderer oder Phosphatakzeptoren vorhanden sind (2 y). Für dialysierte Hepatomextrakte sind die Werte nicht grösser als für frische Extrakte, woraus man schliessen kann, dass Hepatome keine Hinderer bzw. Akzeptoren für Kernphosphat besitzen. Tumorextrakte sind relativ arm an dialysierbaren Komponenten (2 y).

Die frischen Extrakte transplantiertter Hepatome zeigen eine stärkere Desaminierung und Dephosphorylierung als diejenigen normaler Leber und auch primärer Hepatome; die Erhöhung ist ausgeprägter bei RNA als bei DNA. Bei anderen Tumoren und ihren Ursprungsgeweben ist die Desaminierung dagegen von gleicher Grössenordnung oder sinkt bei Neoplasie sogar beachtlich ab. Das Hepatom scheint hier eine Ausnahme zu sein. Unter Dialyse-Bedingungen jedoch bestehen keine Unterschiede zwischen normaler Leber, primärem und transplantiertem Hepatom, wahrscheinlich als Folge der überall gleichen Depolymeraseaktivität. Die Desaminierung

in frischen Extrakten lässt sich wohl nicht mit der Depolymeraseaktivität erklären, sie hängt mehr von der molekularen Grösse des Substrates ab (2 z).

Interessant sind die Entfärbungsstudien mit Methylenblau. Vergleicht man die Entfärbung vor und nach Zuführung von DNA bzw. RNA, so stellt man fest, dass sie bei Extrakten von normaler erwachsener, regenerierender und fetaler Leber sinkt - stärker nach DNA als RNA - , beim Hepatom-extrakt dagegen steigt - mehr nach RNA als DNA. Das Hepatom scheint unter gleichen experimentellen Bedingungen zu einer viel grösseren Nutzung der Nukleinsäuren fähig zu sein als die normalen Lebergewebe. Ob die zugeführten Nukleinsäuren im Hepatomextrakt als Katalysatoren (zum Wasserstofftransport) oder einfach als Substrate wirken, ist noch nicht geklärt (2 α).

Bei quantitativer Untersuchung der Entfärbung fand sich eine Ähnlichkeit zwischen normaler erwachsener und regenerierender Leber einerseits und fetaler Leber und Hepatom andererseits. Mit einer Ausnahme: in Anwesenheit von RNA bewegt sich die Entfärbungsrate des Hepatoms in der Grössenordnung von erwachsener und regenerierender Leber (2 α).

Die Wirkung von RNA auf Hepatomextrakte ist bemerkenswert. Ähnliche Ergebnisse erhält man beim Studium der Desaminierung. Auch diese ist grösser bei Hepatom- als bei Leberextrakten und steigt nach Zuführung von RNA besonders stark an. Anscheinend ist der Wasserstofftransport abhängig von der Desaminierung der zugeführten Kernstoffe (2 α).

Unter Dialysebedingungen entfärben Hepatom und normale Leber in gleichem Masse. Die Entfärbung steigt nach Zuführung von DPN und Bicarbonat an, wobei die Leber stärker anspricht als das Hepatom (73).

c) Subzelluläre Fraktionen.

Viele der bisher beschriebenen Ergebnisse erhielt man beim Studium der subzellulären Fraktionen. Nachfolgend ist ein Überblick über die Lokalisation verschiedener wichtiger Zellkomponenten und ihr Verhalten nach einer Neoplasie aufgezeigt (2 β):

	höher im Hepatom	geringer im Hepatom
Homogenat:	Kathepsin mit Leucin als Substrat, Protein, DNA, RNA, DPN-cytochrom-reduktase	Riboflavin, Coencym A, Vit. B ₆ , Pantothersäure, Bernsteinsäure- (74), Cytochrom-oxydase, ATP-ase (75), TPNH-cytochrom c-reduktase (76)
Kerne:	Kathepsin mit Hb ⁺) als Substrat, Protein, DNA, RNA, Cytochrom-reduktase	Kathepsin mit Leucinamid als Substrat, Coencym A, Pantothersäure, Vit. B Bernsteinsäure- und Cytochrom-oxydase, ATP-ase, Riboflavin etwa normal
Mitochondrien:	Kathepsin mit Hb als Substrat, DNA in Rat-ten-, aber nicht in Mäusegeweben	Kathepsin mit Leucinamid als Substrat, Protein, Vit. B ₆ , RNA, Riboflavin, Coencym A, Pantothersäure, Bernsteinsäure- und Cytochrom-oxydase, ATP-ase
Mikrosomen:	Kathepsin mit Hb als Substrat, ATP-ase	Kathepsin mit Leucina-mid als Substrat, Coen-cym A, Pantothersäure
Überstand:	Kathepsin mit Hb als Substrat, Protein, RNA, ATP-ase, Cytochrom-reduktase	Kathepsin mit Leucina-mid als Substrat, Coen-cym A, Pantothersäure, Vit. B ₆ , Bernsteinsäure-oxydase

Relativ gesehen ist besonders reichlich enthalten:

Kathepsin	in Mitochondrien
DNA	im Kern (fast die gesamte DNA)

+) Hb = Hämoglobin

RNA	in Mikrosomen
ATP-ase	in Kernen, Mitochondrien, Mikrosomen
Riboflavin, Vit. B ₆	in Mitochondrien, Überstand
Coencym A, Panto ⁶ thensäure	in Kernen, Mitochondrien, Überstand
Cytochrom-reduktase	in Mikrosomen
Bernsteinsäure-, Cytochrom-oxydase	in Mitochondrien.

Interessant sind die Ergebnisse der Kathepsinstudien, einmal, da die Aktivität je nach benutztem Substrat verschieden ist - multiple Natur des Kathepsins -, zum anderen, weil sich die höhere Aktivität des Tumorphomogenats in keiner seiner subzellulären Fraktionen widerspiegelt. Die Erforschung der verschiedenen intrazellulären Aminosäurekonzentrationen des Hepatoms ergab keine auffallenden Veränderungen im Vergleich zur normalen Leber. Der RNA-Gehalt im Überstand des Hepatoms ist nahezu verdoppelt (77), der Proteingehalt aber nur wenig erhöht. Der Quotient RNA : Protein ist also gestiegen; dies ist bei normalen Geweben nicht der Fall (78).

Besonders wichtig war das Studium der subzellulären Fraktionen für die Cancerogenese. Man stellte fest, dass es Zellteilungen gibt, die so schnell ablaufen, dass einzelne Bestandteile nicht mehr gebildet werden können und so der Zelle verloren gehen. Die Einzelergebnisse entsprechen denen der später auftretenden Tumoren: die Kerne zeigten einen höheren Protein- und DNA-Gehalt (79), in den Mitochondrien waren Riboflavin, Protein und RNA vermindert, und der Überstand enthielt mehr RNA als normal (80).

III. SYNTHESE- UND EINBAUSTUDIEN.

Durch Einführung der Isotopen in die Biochemie wurde das komplexe Gebiet der Synthesen der Forschung zugänglich gemacht. Die bisher vorliegenden Ergebnisse und Theorien beziehen sich vor allem auf normale Gewebe. Sie sollen jedoch, da sie die Grundlage aller später an Tumoren durchzuführenden Studien sein werden, auch Erwähnung finden.

1. Proteinsynthese.

α) Sitz der Proteinbildung in vivo und wohl auch in vitro ist die Mikrosomenfraktion. Ein zellfreies und mitochondrienarmes aber mikrosomenreiches System, das eine lösliche Leberproteinfraktion, ein ATP erzeugendes System und eine isotope Aminosäure enthält, ist zur Synthese fähig. Wie aus Studien an Bakterien hervorgeht, sind zur Synthese von Proteinen (z.B. von Fermenten) auch Nukleinsäuren erforderlich, insbesondere RNA (81). Senfgas und Röntgenstrahlen führen zu einer Hemmung der DNA-, nicht aber der RNA- und Fermentsynthese. Umgekehrt wurde DNA synthetisiert unter Bedingungen, wo die RNA- und Fermentsynthese gestört waren. Hier scheint eine gewisse Parallelität zwischen Protein- und Nukleinsäurestoffwechsel vorzuliegen (81).

Im übrigen sind unsere Kenntnisse noch sehr gering. Ein Grund dafür ist, dass die Isotopen, die den Weg der mit ihnen verbundenen Aminosäuren aufzeigen sollen, nicht im Verbands ihres Moleküls bleiben sondern einer lebhaften intermediären Umwandlungstätigkeit unterliegen, ehe sie schliesslich im synthetisierten Protein nachgewiesen werden - auch als Bestandteile von Aminosäuren, mit denen sie ursprünglich nichts zu tun hatten (28).

So weiss man auch heute noch nicht, wie Proteine entstehen, ob über verschiedene Zwischenstufen wie Peptide und Polypeptide oder ob sie

direkt aus den einzelnen Aminosäuren gebildet werden, ja man ist sich nicht einmal darüber im klaren, wie eine einzige Peptidbindung zustande kommt. (Gegen einen stufenweisen Aufbau spricht vor allem, dass alle Aminosäuren gleichzeitig gefüttert werden müssen, wenn ein positives N-gleichgewicht erreicht werden soll (81)). Nur soviel scheint sicher zu sein, dass die Synthese keine Umkehrung der Hydrolyse ist, und dass der unbekannte Vorgang erhebliche Energiemengen erfordert (28). Mehrere Theorien sind aufgestellt worden, wie die Synthese vor sich gehen könnte (81).

β) Das Studium einfacher Peptidmodelle ergab, dass es 2 Möglichkeiten für die Energieübertragung gibt, eine mit Coencym A (Hippursäuresynthese, es entsteht das energiereiche Benzoyl-Coencym A) und eine ohne Coencym A (Glutathionsynthese). Man nimmt an, dass im letzteren Fall die Aktivierung und Energieübertragung im Augenblick der Synthese auf das Ferment selbst stattfindet. Ähnlich ist der Vorgang vermutlich bei den komplexeren Peptiden und Proteinen, denn auch dort konnten keine phosphorylierten Aminosäuren oder Coencym A-bindungen isoliert werden. Auf Grund dieser Hypothesen entwickelte Lipmann die Theorie von den spezifischen Zentren, die durch Aufnahme energiereicher Phosphatbindungen von ATP zur Synthese aktiviert werden. Hoagland dagegen vertritt die Meinung, dass einzelne Aminosäuren aktiviert werden (ebenfalls durch ATP), die dann mit anderen Aminosäuren oder Peptidketten reagieren (81).

γ) Auf Grund der Komplexität des Vorganges und unserer Unkenntnis ist nicht anzunehmen, dass die Proteinsynthese in Tumoren genau so verläuft wie in normalen Geweben, wenn auch noch kein bedeutender Unterschied gefunden wurde (81).

Die Vergleiche haben zu den grössten Interpretationsschwierigkeiten geführt: während in vivo markierte Aminosäuren (Glykokoll und Alanin) schneller in die Proteine der normalen Leber als des Hepatoms eingebaut wurden, war es in vitro umgekehrt (82 - 84). Ähnlich wie das Hepatom verhält sich die fetale Leber. Die Vorgänge in vitro scheinen für schnell wachsende Gewebe allgemein charakteristisch zu sein. Zur Erklärung der widersprechenden Ergebnisse führt man die verschiedenen

Versuchsbedingungen an wie die Durchblutung in vivo und die lokale Aminosäurenkonzentration (85, 26) in vitro. Es erhebt sich die Frage, ob überhaupt ein Protein synthetisierendes Gewebe, das nicht wächst, mit einem solchen, das wächst, verglichen werden kann, wenn es sich um das Problem der Proteinsynthese handelt (26).

Bis jetzt steht nur fest, dass ein Tumor auf Kosten seines Wirtes lebt und dessen Proteinstoffwechsel verändert (81). Der Anstieg seines Proteingehaltes ist aber weniger auf eine abnorm hohe Proteinsynthese als auf einen verminderten Abbau zurückzuführen (81). Die Ausdrücke "One way passage" (Le Page, Potter, Busch, Heidelberger, Hurlbert 1952) und "N-trap" (Milder 1948) bezeichnen diesen Zustand treffend.

2. Nukleinsäuresynthese.

a) Die Verwendung von Isotopen im Nukleinstoffwechsel hatte grösseren Erfolg. Sie führte unter anderem zu der Entdeckung, dass der Purinring in vivo aus kleinsten Bausteinen zusammengesetzt werden kann.

Von besonderem Interesse ist die DNA- und RNA-synthese. Es ergab sich, dass DNA nur während Zellteilungen bzw. kurz davor gebildet wird (86, 87). Die Synthese ist irreversibel (86, 87). DNA besteht aus mindestens zwei Fraktionen, wie man aus Einbaustudien mit Formiat schliessen kann (87). - Bei der Erforschung der RNA-synthese stellte man fest, dass Kern-RNA Glykokoll (88), P_{32} , Adenin und Orotsäure (87) im allgemeinen schneller aufnimmt als Cytoplasma-RNA (87). Diese Befunde bestätigen die Annahme, dass Kern-RNA ein Vorläufer von Cytoplasma-RNA ist (81). Bei der Proteinsynthese dagegen findet man den stärksten Einbau von Glykokoll in den Mikrosomen, eine Tatsache, die gegen die früher angedeutete Beziehung zwischen Protein- und Nukleinsäuresynthese spricht (24).

Von Hurlbert und Schmitz erstmalig isoliert wurden die säurelöslichen Nukleotide (Nukleotid-pool). Es handelt sich um die Mono-, Di- und Tri-phosphate von Cytidin, Adenosin, Guanosin und Uridin (oder Derivate). Der intermediäre Charakter dieser Stoffe geht daraus hervor,

dass sie markierte Vorläufer (Glykokoll, Orotsäure, P_{32}) zu einem früheren Zeitpunkt enthalten als Polynukleotide. Wie man aus Versuchen mit P_{32} schliessen kann, ist die Aufnahme von Isotopen in den Nukleotid-pool für alle Gewebe gleich und erst die Aufnahme in die Nukleinsäuren jeweils verschieden. Die Höhe der Nukleinsäuresynthese scheint also nicht durch die Bildung der freien Nukleotide sondern durch den weiteren Zusammenschluss dieser Nukleotide bestimmt zu sein (89).

Wie aus Untersuchungen an regenerierender Rattenleber hervorgeht, erzeugt der Nukleotid-pool fast ausschliesslich Ribonukleotide, und DNA scheint direkt aus RNA zu entstehen. Diese Feststellungen gelten nur für die Bildung von Pyrimidin-deoxy-ribonukleotiden. Über die Synthese (87, 87a, 87b) von Purin-deoxy-ribonukleotiden ist nichts bekannt.

β) Der Nukleinsäurestoffwechsel von Tumoren scheint qualitativ gleich, quantitativ aber höher als bei normalen Geweben zu sein, wie die schon früher erwähnten Entfärbungsstudien mit Methylenblau andeuten. So werden auch Adenin, P_{32} , Formiat, Orotsäure bzw. ihre Isotopen schneller in Hepatom-DNA als in normales DNA eingebaut, wobei Ratten besonders viel Adenin und wenig Guanin aufnehmen, während es bei Mäusen zum Teil umgekehrt ist.

Orotsäure, die als Vorläufer der Pyrimidine gilt, wird 7-10 mal so schnell in Tumor-uridylsäure als in Tumor-cytidylsäure eingebaut. In normaler Leber ist der Gegensatz nicht so gross (90).

Auch exogene Pyrimidine können von höheren Organismen zur Nukleinsäuresynthese verwendet werden: Uracil wird in die Nukleinsäuren des Hepatoms und der präneoplastischen Leber, nicht aber der normalen Leber, eingebaut. Vielleicht dient es dem Hepatom auch nur zur Ernährung, entsprechend dem hohen Umsatz von Cytidylsäure in manchen Tumoren (91).

3. Wachstumsstoffwechsel (17).

Unter diesem komplexen Begriff lassen sich alle bisher geschilderten Stoffwechselvorgänge vereinen. Im Mittelpunkt der Betrachtungen steht der Nukleinsäurestoffwechsel, denn er ist ein gemeinsamer Nenner für Glykolyse und Atmung auf der einen sowie Funktion (wie durch die Coenzyme vermittelt) und Nukleinsäuresynthese auf der anderen Seite. Die Ergebnisse der Studien des Mononukleotidpools lassen vermuten, dass der Phosphorylierungsspiegel aller Mononukleotide in enger Verbindung mit dem der Adeninnukleotide steht, und dass die letzteren den Zusammenhang zur oxydativen Phosphorylierung und zur Glykolyse herstellen.

So ist es denkbar, dass die Schädigung eines Fermentes, vielleicht aus der Atmungskette, zu der für Tumoren so charakteristischen dauernden DNA-synthese führt. Da ein solches Ferment aber nicht bekannt ist, spricht Potter von einem "Atmungsfermentgleichgewicht", welches das Wachstum fördert oder hemmt. Seit das weitverbreitete Vorkommen eines Fermentes beschrieben wurde, das Nukleotid-diphosphat in RNA-polynukleotide verwandelt, sieht man auch in der Veränderung der relativen ADP- und ATP-konzentrationen (und der Nukleotide in schnellem Wechsel mit ihnen) eine wichtige das Wachstum kontrollierende Reaktion.

Die Theorie des Atmungsfermentgleichgewichtes wird durch ein Schema von Potter veranschaulicht. Potter nimmt an, dass die oben erwähnte direkte Umwandlung von RNA in DNA vielleicht mit DPNH erfolgt. Diese Reaktion würde nur einen Bruchteil des gesamten Wasserstofftransportes ausmachen und müsste in einem besonderen Teil der Zelle stattfinden oder chemisch abgesondert sein; so könnte TPN ohne Beeinträchtigung der Reaktionen zwischen DPNH und O_2 eine bedeutsame Wirkung auf die DNA-synthese ausüben. x_1 und x_3 existieren, über ihre Menge, Verteilung und Kontrollfaktoren ist jedoch nichts bekannt; x_2 dagegen ist rein hypothetisch. Eine Verminderung von x_1 und x_3 hätte grossen Einfluss auf x_2 . Der völlige Verlust von x_3 würde eine Zelle in eine Krebszelle verwandeln und könnte der von Warburg geforderten Atmungsschädigung entsprechen (siehe Abb.).

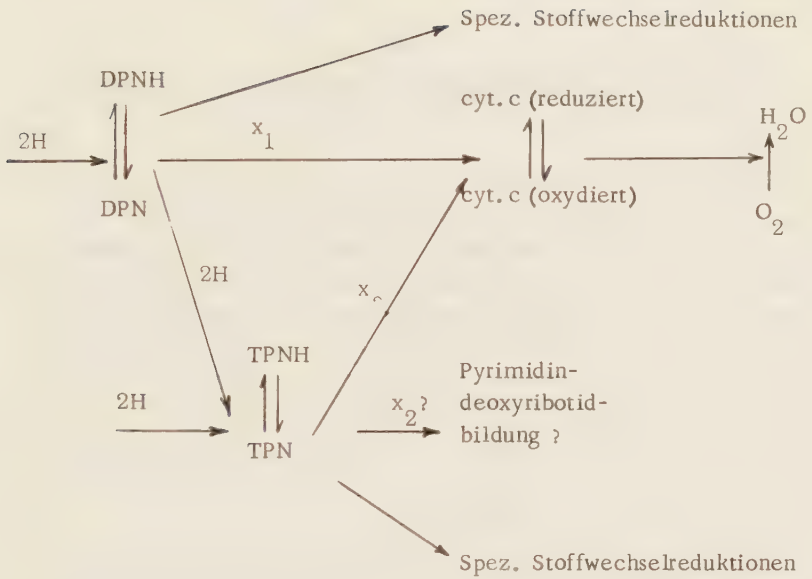


Abb.: Versuch, eine Beziehung zwischen Atmungsfermentgleichgewicht und DNA-synthese herzustellen. Ferment x_2 ist hypothetisch. (Nach Potter).

BEDEUTUNG DER HEPATOME FÜR DIE CARCINOMFORSCHUNG.

Hepatome sind die geeignetsten Gewebe zur Durchführung von Vergleichen zwischen Tumoren und ihren Ursprungsgeweben (35). Die unter II. aufgeführten Ergebnisse wurden zum grössten Teil an Hepatomen gewonnen. Es ist das Verdienst dieser Studien, Substrate und Fermente von normalen und Tumorgeweben systematisch erforscht und mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit festgestellt zu haben, dass die bestehenden Unterschiede nur quantitativer Art sind (abgesehen vielleicht von dem Verlust der h-Komponenten aus der löslichen Proteinfraktion).

Die Erforschung der Ursachen dieser Veränderungen ist auf Grund experimenteller Gegebenheiten (siehe S. 6) beim Hepatom wie auch den anderen soliden Tumoren sehr schwierig.

In der noch relativ jungen Isotopenchemie spielen Hepatome bis jetzt noch keine sehr grosse Rolle. Es ist jedoch anzunehmen, dass nach Klärung der normalen Synthesevorgänge besonders sie zum Vergleich herangezogen werden.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Biochemie der Carcinome wurde unter besonderer Berücksichtigung der Hepatome behandelt.
2. Tumoren stehen innerhalb des Stoffwechselbereiches normaler Gewebe, sie streben mit zunehmendem Alter einem gemeinsamen Gewebstyp zu. Qualitative Unterschiede zu normalen Geweben bestehen wohl nicht.
3. Die Studien der Präcancerose und Primärtumoren sind widersprechend. Die im folgenden aufgeführten Ergebnisse gelten für transplantierte Hepatome.
4. Im Tumor-kohlenhydrat-stoffwechsel stehen sich eine hohe aerobe Glykolyse und ein relativer Mangel an Atmungsfermenten gegenüber. Die Bedeutung dieser Veränderungen wird diskutiert.
5. Aus eigenen Versuchen geht hervor, dass der ATP-Gehalt von Hepatomen mit Buttergelb gefütterter Ratten stark vermindert ist.
6. Noch relativ wenig erforscht ist der Fettsäurestoffwechsel.
7. Charakteristisch für die Proteine eines jeden Gewebes ist das Verhältnis Cystin : Cystein.
8. Die h-Komponenten der löslichen Proteine scheinen für die Wachstumskontrolle wesentlich zu sein. Sie sind im Hepatom vermindert oder fehlen ganz.
9. Spezifische Fermentsysteme der Leber sind im Hepatom kaum oder garnicht mehr nachzuweisen. Die Aktivität der proteolytischen Fermente ist im allgemeinen erhöht.
10. Die Bedeutung der Dehydropeptidasen wurde erörtert.
11. Der DNA-Gehalt je Kern ist für Hepatom und normale Leber gleich, er kann als Mass für die Zellteilungen angesehen werden.

12. Die Depolymerisierung der Nukleotide ist beim Hepatom unverändert, die Desaminierung und Dephosphorylierung dagegen sind erhöht.
13. Die Entfärbung von Methylenblau wird in Hepatomextrakten im Gegensatz zu Extrakten normaler Leber durch RNA sehr beschleunigt.
14. Die Kenntnisse von der Proteinsynthese sind auf Grund experimenteller Schwierigkeiten noch sehr gering.
15. Der Vergleich von Einbaustudien bei normaler Leber und Hepatom hat zu grossen Interpretationsschwierigkeiten geführt.
16. Der Tumor lebt auf Kosten seines Wirtes und verändert dessen Proteinstoffwechsel. Sein hoher Proteingehalt ist weniger auf eine gesteigerte Synthese als auf einen verminderten Abbau zurückzuführen.
17. Die Erforschung der Nukleinsäuresynthese führte zu der wichtigen Entdeckung eines Nukleotid-pools.
18. Pyrimidin-deoxy-nukleotide werden anscheinend direkt aus den entsprechenden Ribonukleotiden gebildet.
19. Der Einbau von Isotopen in die Nukleinsäuren des Hepatoms ist höher als normal.
20. Die theoretische Möglichkeit einer Atmungsschädigung wurde an Hand von Betrachtungen über den Wachstumsstoffwechsel erörtert.
21. Die Bedeutung der Hepatome für die Carcinomforschung wurde zusammenfassend besprochen.

Herrn Professor Dr. W. SEITZ möchte ich an dieser Stelle für die Übernahme des Referates, Frau Dr. Dr. V. von BRAND für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei dieser Arbeit meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

LITERATURVERZEICHNIS.

- 1) Medes, G., Friedmann, B., Weinhouse, S.:
 Fatty acid metabolism VIII. Acetate metabolism in vitro during hepatocarcinogenesis by p-dimethylaminoazobenzene.
 Cancer Res. 16, 57 (1956).

- 2) Greenstein, J.P.: Biochemistry of cancer.
 Academic Press Inc., New York 1954.

(2 a) : S. 329	(2 q) : S. 464
(2 b) : S. 359	(2 r) : S. 472
(2 c) : S. 360	(2 s) : S. 377-378
(2 d) : S. 362	(2 t) : S. 379
(2 e) : S. 363	(2 u) : S. 380
(2 f) : S. 361	(2 v) : S. 381
(2 g) : S. 352	(2 w) : S. 389
(2 h) : S. 448	(2 x) : S. 390
(2 i) : S. 457	(2 y) : S. 383
(2 k) : S. 376	(2 z) : S. 393-394
(2 l) : S. 440	(2 α) : S. 435-436
(2 m) : S. 447	(2 β) : S. 479
(2 n) : S. 405	(2 γ) : S. 473-474
(2 o) : S. 371	(2 δ) : S. 476
(2 p) : S. 465	(2 ϵ) : S. 477

- 3) Maver, M.E. and Dunn, T.B.:
 Catheptic activities of neoplasms and of the tissues of normal and tumor bearing mice correlated with histologic changes.
 J. Nat. Canc. Inst. 6, 49 (1945).

- 4) Dickens, F. and Weil-Malherbe, H.:
The metabolism of normal und tumor tissue.
XX. A comparison of the metabolism of tumors
of liver and skin with that of the tissue of origin.
Cancer Research 3, 73 (1943).
- 5) Goranson, E.S., McBride, J., Weber, G.:
Phosphorylase activity in rat hepatoma and mouse
mammary carcinoma transplants.
Cancer Research: 14, 227 (1943).
- 6) Bierich, R.:
Untersuchungen über Krebsbildung.
Münch. med. Wschr. 1923, 1145.
- 7) Bierich, R.:
Untersuchungen über das Zustandekommen der
bösartigen Geschwülste. I. Der Milchsäurege-
halt der Gewebe. Hoppe-Seylers Z. 155, 245
(1926).
- 8) Le Page, G. A.:
Phosphorylated intermediates in tumor glykolysis.
I. Analysis of tumors. Cancer Res.: 8, 193 (1943).
- 9) Le Page, G. A.:
Measurements of keto acids in normal and neo-
plastic rat tissue. Cancer Res. 10, 393 (1950).
- 10) Weinhouse, S., Millington, R. H., Wenner, C. E.:
Metabolism of neoplastic tissue. I. The oxida-
tion of carbohydrate and fatty acids in transplan-
ted tumors. Cancer Res. 11, 845 (1951).
- 11) Potter, Van R.:
Paper Nr. 1: Studies on the reactions of the Krebs
citric acid cycle in tumor, with homogenates,
slices and in vivo technics. Cancer Res. 11,
565 (1951).
- 12) Wenner, C. E., Spirtes, M. A., Weinhouse, S.:
Metabolism of neoplastic tissue. II. A survey
of enzymes of the citric acid cycle in transplan-
tes tumors. Cancer Res. 12, 44 (1952).

- 13) Wenner, C.E., Weinhouse, S.:
Metabolism of neoplastic tissue. III. Diphosphopyridine nukleotide requirements for oxidations by mitochondria of neoplastic and non-neoplastic tissues. *Cancer Res.* 13, 21 (1953).
- 14) Medes, G., Thomas, A., Weinhouse, S.:
Metabolism of neoplastic tissues. IV. A study of lipid synthesis in neoplastic tissue slices in vitro. *Cancer Res.* 13, 27 (1953).
- 15) Goldfeder, A., Albaum, H.G.:
Phosphorylated intermediates in glykolysis of analogous mouse mammary tumors. I. Mouse mammary tumors of the dba and C3H strains. *Cancer Res.* 11, 118 (1951).
- 16) Wenner, C.E., Weinhouse S.:
Effects of dinitrophenol and fluoride on glucose oxidation in tumor homogenates. *Cancer Res.* 15, 497 (1955).
- 17) Potter, Van R.:
Biochemical uniformity and heterogenity in cancer tissue (further Discussion). *Cancer Res.* 16, 658 (1956).
- 18) Weber, G., Cantero, A.:
Glucose-6-phosphatase-activity in neoplasia. *Cancer Res.* 15, 105 (1955).
- 19) Weber, G., Cantero, A.:
Glucose-6-phosphatase-activity in regenerating, embryonal and neoplastic liver of the rat. *Cancer Res.* 15, 679 (1955).
- 20) Weber, G., Cantero, A.:
Glucose-6-phosphate utilization in hepatoma, regenerating and newborn rat liver, and in the liver of fed and fasted normal rats. *Cancer Res.* 17, 995 (1957).

- 21) Meyerhof, O., Wilson, J.R.:
 Studies on the enzymatic system of tumor gly-
 kolytic. II. Comparative study of rat and mouse
 tumor homogenates.
 Arch. of Biochem. 21, 22 (1949).
- 22) Boyland, E., Goss, G.C.L., Williams-Ashmann, H.G.:
 The hexokinase activity of animal tumours.
 Biochem. J. 49, 321 (1951).
- 23) Abraham, S., Hill, R., Chaikoff, J.L.:
 Concerning pathways of glucose utilization in
 mouse liver and hepatoma.
 Cancer Res. 15, 177 (1955).
- 24) Schneider, W.C., Potter, Van R.:
 Biocatalysts in cancer tissue. III. Succinic dehy-
 drogenase and cytochrome oxidase.
 Cancer Res. 13, 353 (1953).
- 25) Robertson, W.von B., Kahler, H.:
 Riboflavin content of tumor tissues.
 J.Nat.Canc.Inst. 2, 595 (1942).
- 26) Du Bois, K.P., Potter, Van R.:
 Biocatalysis in cancer tissue. I. Cytochrome c.
 Cancer Res. 2, 290 (1942).
- 27) Shack, J.:
 Cytochrome oxidase and d-amino acid oxidase
 in tumor tissue. J.Nat.Canc. Inst. 3, 389 (1943).
- 28) Greenstein, J.P., Edwards, J.E., Andervont, H.B., White, J.:
 Comparative enzymic activity of transplanted
 hepatomas and of normal, regenerating and fetal
 liver. J.Nat.Canc.Inst. 3, 7 (1943).
- 29) Lan, T.H.:
 D-aminoacid oxidase, uricase und choline oxi-
 dase in the livers and in isolated liver cell nuclei
 of rats bearing transplanted tumors.
 Cancer Res. 4, 37 (1944).

- 30) Bernheim, F., Felsovanyi, A.v.:
Coenzyme concentration of tissues.
Science 91, 76 (1940).
- 31) Kensler, C.J., Sugiura, K., Rhoads, C.P.:
Coenzyme I and riboflavin content of livers
of rats fed butter yellow.
Science 91, 623 (1940).
- 32) Lenta, M.P., Riehl, M.A.:
The coenzyme I oxidase system in normal and
tumor tissues. Cancer Res. 12, 498 (1952).
- 33) Bingold, K., Stich, W., Cramer, H.:
Porphyrine und Krebs. I. Mitteilung. Unter-
suchungen über den Porphyringehalt maligner
Tumoren beim Menschen.
Z. Krebsforsch. 57, 653 (1951).
- 34) Euler, H. von, Skarzynski, B.:
Biochemie der Tumoren.
Ferdinand Enkel, Stuttgart 1942.
- 35) Weinhouse, S.:
Discussion of Dr. Greenstein's paper.
Cancer Res. 16, 654 (1956).
- 36) Le Page, G.A.:
Glykolysis in tumor homogenates.
J. of Biol. Chem. 176, 1009 (1948).
- 37) Lemon, H.M., Walker, B.S., Reynolds, M.D., Wotiz, H.H.:
Biochemistry of human cancer. Medical
Progress 1954.
- 38) Le Page, G.A.:
A comparison of tumor and normal tissues with
respect to factors affecting the rate of anaerobic
glycolysis. Cancer Res. 10, 77, (1950).
- 39) Weinhouse, S.:
Paper Nr. 3 in the symposium on intermediary
carbohydrate metabolism in tumor tissue. -
Studies on the fate of isotopically labeled me-
tabolites in the oxidative metabolism of tumors.
Cancer Res. 11, 585 (1951).

- 40) Kielley, R.K.: Oxidative phosphorylation by mitochondria of transplantable mouse hepatoma and mouse liver. *Cancer Res.* 12, 124 (1952).
- 41) Potter, Van R., Busch, H.:
Citric acid content of normal and tumor tissues in vivo following injection of fluoroacetate. *Cancer Res.* 10, 353 (1950).
- 42) Lettré, H.: Der Stand der Krebsforschung. Die Medizinische, Heidelberg 1953, 897.
- 43) Hirsch, H.H.: Über den Tumorstoffwechsel. *Z. Krebsforschung* 58, 646 (1952).
- 44) Warburg, O.: Über die Entstehung von Krebszellen. *Naturwiss.* 42, 401 (1955).
- 45) Weinhouse, S., Allen, A., Millington, R.H.:
Metabolism of neoplastic tissue. V. Fatty acid oxidation in slices of transplanted tumors. *Cancer Res.* 13, 367 (1953).
- 46) Olson, R.E.: Paper Nr. 2 in the symposium on intermediary carbohydrate metabolism in tumor tissue. Oxidation of C¹⁴-labeled carbohydrate intermediates in tumor and normal tissue. *Cancer Res.* 11, 571 (1951).
- 47) Zamecnik, P.C., Loftfield, R.B., Stephenson, M.C., Steele, J.M.:
Paper Nr. 4 in the symposium on intermediary carbohydrate metabolism in tumor tissue. Studies on the carbohydrate and protein metabolism of the rat hepatoma. *Cancer Res.* 11, 592 (1951).
- 48) Brand, V. von, Helmreich, E.:
Beziehungen der Glykolyse zum Fettstoffwechsel. Die Transportfunktion der Pyridincoenzyme im Zusammenspiel von Glykolyse, Atmung und Fettsynthese. *Biochem. Zschr.* 328, 146 (1956).

- 49) Greenstein, J.P., Leuthardt, F.M.:
S distribution in extracts of normal and neoplastic tissues. J. Nat. Canc. Inst. 5, 111 (1945).
- 50) Greenstein, J.P., Jenrette, W.V.:
Chemical studies on the componends of normal and neoplastic tissues. II. The nukleoprotein fraction of normal animal liver.
J. Nat. Canc. Inst. 1, 91 (1940).
- 51) Greenstein, J.P., Jenrette, W.V., White, J.:
Note on the composition of the nucleoprotein fraction of normal liver and of the transplanted hepatic tumor in the rat.
J. Nat. Canc. Inst. 2, 305 (1941).
- 52) Ghosh, D., Lardy, H.:
Inhibition of the Pasteur effect in yeast by tumor extracts and differences in lability of sulfur in normal and tumor tissues.
Cancer Res. 12, 232 (1952).
- 53) Roberts, E., Frankel, S.:
Free amino acids in normal and neoplastic tissues of mice as studied by paper chromatography.
Cancer Res. 9, 645 (1949).
- 54) Sorof, S., Cohen, P.P.:
Electrophoretic and ultracentrifugal studies on the soluble proteins of various tumors and of livers from rats fed 4-dimethylaminoazobenzene.
Cancer Res. 11, 376 (1951).
- 55) Sorof, S., Young, E.M., Ott, M.G.:
Soluble liver h proteins during hepatocarcinogenesis by amino azo dyes and 2-acetylaminofluorene in the rat.
Cancer Res. 18, 33 (1958).

- 56) Sorof, S., Cohen, P.P., Miller, E.C., Miller, J.A.:
Electrophoretic studies on the soluble proteins
from livers of rats fed aminoazo dyes.
Cancer Res. 11, 383 (1951).
- 57) Eldredge, N.T., Luck, M.:
Electrophoretic studies on the water-soluble pro-
teins of liver during azo dye carcinogenesis in
the rat. Cancer Res. 12, 801 (1952).
- 58) Hoffman, H.E., Schlechtman, A.M.:
Electrophoretic changes in proteins from livers
of rats fed 4-dimethyldiaminoazobenzene.
Cancer Res. 12, 129 (1952).
- 59) Masayama, T., Iki, H., Yokoyama, T., Hasimoto, M.:
Biochemisches Studium beim Verlauf der Leber-
krebsentstehung durch die Verfütterung von Di-
methyldiaminoazobenzol. Gann 32, 303 (1938).
- 60) Greenstein, J.P.: Incubation of citrulline and ammonia with normal
and neoplastic hepatic tissues.
J. Nat. Canc. Inst. 3, 293 (1942).
- 61) Tung, T.C., Cohen, P.P.:
The synthesis of citrulline and p-aminohippuric
acid by rat hepatoma.
Cancer Res. 10, 793 (1950).
- 62) Greenstein, J.P., Fodor, P.J., Leuthardt, F.M.:
The neoplastic transformation as a biological frac-
tionation of related enzyme systems.
J. Nat. Canc. Inst. 10, 271 (1949).
- 63) Greenstein, J.P., Jenrette, W.V., Mider, G.B., White, J.:
Chemical studies on the components of normal
and neoplastic tissues. V. The relative arginase
activities of certain tumors and normal control
tissues. J. Nat. Canc. Inst. 1, 687 (1941).

- 64) Cohen, P.P., Hekhuis, G.L., Sober, E.K.:
Transamination in liver from rats fed butter
yellow. *Cancer Res.* 2, 405 (1942).
- 65) Rao, K.R., Birnbaum, S.M., Greenstein, J.P.:
Encymatic susceptibility of comparable
N-acylated L-, D- and Dehydroamino acids.
J. of Biol. Chem. 203, 1 (1953).
- 66) Levintow, L., Fu, S-C.J., Price, V.E., Greenstein, J.P.:
A resolution of histidine, cystine and alanine by
asymmetric encymatic hydrolysis of the racemic
amides. *J. of Biol. Chem.* 184, 633 (1950).
- 67) Greenstein, J.P.: Dehydropeptidases. *Adv. Encymol.* 8, 117 (1948).
- 68) Shack, J.: Purification and properties of dehydropeptidases.
J. of Biol. Chem. 180, 411 (1949).
- 69) Butenandt, A., Dannenberg, H.:
Biochemie der Geschwülste.
Aus: Handbuch der Allgemeinen Pathologie, -
Springer 1956, Teil VI, S. 182.
- 70) De Lamirande, G., Allard, C., Cantero, A.:
Ribonucleic acid composition of rat liver tumor
induced by 4-dimethylaminoazobenzene.
Cancer Res. 15, 329 (1955).
- 71) Schneider, W.C.: Phosphorus compounds in animal tissues. II. The
nucleic acid content of homologous normal and
cancer tissues. *Cancer Res.* 5, 717 (1945).
- 72) Greeinstein, J.P., Leuthardt, F.M.:
a) Degradation of cystine peptides by tissues.
IV. Dehydropeptidase activity in normal and
neoplastic tissues.
J. Nat. Canc. Inst. 6, 197 (1946).
b) Encymatic hydrolysis of benzoylarginine amide
in normal and neoplastic tissues.
J. Nat. Canc. Inst. 6, 203 (1946).

- c) Encymatic activity in primary and transplanted rat hepatomas.
J. Nat. Canc. Inst. 6, 211, (1946).
- d) Note on the encymatic activity of normal and neoplastic tissue of the rat.
J. Nat. Canc. Inst. 6, 317 (1946).
- 73) Brues, A. M., Tracy, M. M., Cohn, W. E.:
Nucleic acids of rat liver and hepatoma: Their metabolic turnover in relation to growth.
J. Biol. Chem. 155, 619 (1944).
- 74) Novikoff, A. B.: A transplantable rat liver tumor induced by 4-dimethylaminoazobenzene.
Cancer Res. 17, 1010 (1957).
- 75) Allard, C., De Lamirande, G., Cantero, A.:
Encymes and cytological studies in rat hepatoma transplants, primary liver tumors, and in liver following azo dye feeding or partial hepatectomy.
Cancer Res. 17, 862 (1957).
- 76) Reynafarje, B., Potter, Van R.:
Comparison of transhydrogenase and pyridine nucleotide-cytochrome c reductase activities in rat liver and Novikoff hepatoma.
Cancer Res. 17, 1112 (1957).
- 77) Price, J. M., Miller, E. C., Miller, J. A.:
The intrazellular distribution of protein, nucleic acids, riboflavin and protein-bound aminoazo dye in the livers of rats fed p-dimethylaminoazobenzene. J. of Biol. Chem. 173, 345 (1948).
- 78) Stowell, R. E.: Alterations in nucleic acids during hepatoma formation in rats fed p-dimethylaminoazobenzene.
Cancer Res. 2, 121 (1949).
- 79) Price, J. M., Miller, J. A., Miller, E. C., Weber, G. M.:
Studies on the intrazellular composition of liver and liver tumors from rats fed 4-dimethylaminoazobenzene. Cancer Res. 9, 96 (1949).

- 80) Price, J. M., Miller, E. C., Miller, J. A., Weber, G. M.:
Studies on the intracellular distribution of livers
from rats fed various aminoazo dyes.
Cancer Res. 10, 18 (1950).
- 81) Greenberg, D. M.: Isotopic tracer studies on the biochemistry of
cancer. Cancer Res. 15, 421 (1955).
- 82) Zamecnik, P. C., Frantz, I. D., Loftfield, R. D., Stephenson, M. L.:
Incorporation in vitro of radioactive carbon from
carboxyl labeled DL-alanine and glycine into
proteins of normal and malignant rat livers.
J. Biol. Chem. 175, 299 (1948).
- 83) Tyner, E. P., Heidelberger, C., Le Page, G. A.:
In vivo studies on incorporation of glycine-2-C¹⁴
into proteins and nucleic acid purines.
Cancer Res. 12, 158 (1952).
- 84) Griffin, A. C., Bloom, S., Cunningham, L., Teresi, J. D., Mur-
ray, J.:
The uptake of labeled glycine by normal and
cancerous tissues in the rat.
Cancer 3, 316 (1950).
- 85) Zamecnik, P. C.: The use of labeled amino acids in the study of
the protein metabolism of normal and malignant
tissues. A review. Cancer Res. 10, 659 (1950).
- 86) Nygaard, O., Rusch, H. P.:
Incorporation of radioactive phosphate into nuc-
leic acids of regenerating rat liver.
Cancer Res. 15, 240 (1955).
- 87) a) Hecht, L. I., Potter, Van R.:
Nucleic acid metabolism in regenerating rat
liver. I. The rate of deoxyribonucleic acid
synthesis in vivo. Cancer Res. 16, 988 (1956).
b) Hecht, L. I., Potter, Van R., Takagi, Y.:
- - . II. Studies on growing rats.
Cancer Res. 16, 994 (1956).

- 87) c) Hecht, L.I., Potter, Van R.:
 - - . III. Intermediates in the synthesis of DNA pyrimidine nucleotides.
 Cancer Res. 16, 999 (1956).
- 88) Tyner, E.P., Heidelberger, C., Le Page, G.A.:
 Intracellular distribution of radioactivity in nucleic acid nucleotides and proteins following simultaneous administration of P^{32} and glycine- $2-C^{14}$
 Cancer Res. 13, 186 (1953).
- 89) Daoust, R., Cantero, A.:
 Isolation of acid soluble nucleotides from rat tissues and measurement of their specific activity following P^{32} administration.
 Cancer Res. 15, 734 (1955).
- 90) Weed, L.L.: The incorporation of radioactive orotic acid into the nucleic acid pyrimidines of animal and human tumors. Cancer Res. 11, 470 (1951).
- 91) Rutman, R.I., Cantarow, A., Paschkis, K.E.:
 Studies in 2-acetylaminofluorene carcinogenesis.
 I. The intracellular distribution of nucleic acids and protein in rat liver.
 Cancer Res. 14, 111 (1954).
 - - . II. The in vitro uptake of alanine- $1-C^{14}$ by preneoplastic liver and hepatoma.
 Cancer Res. 14, 115 (1954).
 - - . III. The utilization of uracil- $2-C^{14}$ by preneoplastic rat liver and rat hepatoma.
 Cancer Res. 14, 119 (1954).

L E B E N S L A U F .

Am 27. Februar 1934 wurde ich in Berlin geboren als Sohn des Chemikers Dr. Paul Schulz und seiner Ehefrau Vera geb. Wirth. Mein Vater ist Direktor und Prokurist der Rütgerswerke AG und leitet die Chemische Fabrik Weyl in München-Pasing.

Meine Grundschulausbildung erhielt ich von 1940 - 1943 in Berlin, Duisburg und Spremberg/Nl. Bis Anfang des Jahres 1945 besuchte ich die Oberschule in Spremberg. 1946 kam ich auf das Staatliche Landfermann-Gymnasium in Duisburg, wo ich Ostern 1953 das Abitur machte.

Mein Medizinstudium begann ich 1953 in Innsbruck. Nach zwei Semestern wechselte ich nach München über und blieb dort bis zur Beendigung des Studiums. Im Oktober 1955 bestand ich das Physikum und im Dezember 1958 das Staatsexamen.

